

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences agronomiques
Spécialité/Option: Phytopathologie et Phytopharmacie
Département: Ecologie et Génie de l'Environnement

**Thème :Les effets de trois fongicides de synthèse sur le pouvoir
germinatif de *Botrytis cinerea***

Présenté par : Hamaidia Chahira

Devant le jury composé de :

Présidente :	Merabet R	Université de Guelma
Examineur :	Boudalia S	Université de Guelma
Encadreur :	Boumaaza B	Université de Guelma

Juin 2016

REMERCIEMENTS

En tout premier lieu, je remercie le bon Dieu, tout puissant, de m'avoir donné le courage, force et volonté pour dépasser toutes les difficultés et mener à bien ce modeste travail.

Je voudrais tout d'abord exprimer ma gratitude envers Mr Boumaaza, mon encadreur, pour m'avoir introduit dans le monde de la phytopathologie et la phytopharmacie et permis d'effectuer ce travail dans les meilleures conditions. Merci à vous de m'avoir soutenu et encouragé tout au long du chemin de la maîtrise, pour la qualité de votre encadrement et pour avoir pris le temps de me former. Soyez assurés de mon plus profond respect.

Je tiens à remercier tous les membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu me porter en acceptant de juger ce travail. Les observations et les remarques qu'ils ont émises ont été particulièrement enrichissantes.

J'adresse toute ma reconnaissance à Mme Merabet qui m'a fait l'honneur de présider ce jury de mémoire.

Je remercie Mr Boudalia qui m'a fait l'honneur d'être dans ce jury en tant qu'examineur, et qui a su juger ce travail avec un regard critique, pertinent, constructif et très encourageant.

Merci à toutes les personnes, amies et collègues, qui m'ont soutenue et qui ont contribué à l'avancée de ce travail par leurs savoirs, leurs idées et leur gentillesse.

Dédicaces

*A mes parents et à ma sœur Sarra et mes frères,
Pour l'amour qu'ils m'apportent et leur soutien.*

A Kamel

*Pour ton amour, ta tendresse, ta compréhension et tes
encouragements de tous les jours pendant toute cette épreuve et tout
le reste...*

A Ritedj et Aridj,

Les meilleurs cadeaux que la vie m'a apportés.

A mes beaux parents

Pour leur soutien et leur présence.

TABLE DES MATIERES

Remerciements.....	II
ملخص.....	VI
Résumé.....	VII
Abstract.....	VIII
Liste des figures.....	IX
Liste des tableaux.....	IX
Liste des abréviations.....	X
Introduction	2
Chapitre I- Plante Hôte : la tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Miller)	2
I.1.Introduction	3
I.2.Historique de la tomate	3
I.3.Classification botanique de la tomate.....	3
I.4.Diversité génétique.....	4
I.5.Classification culturelle.....	5
I.5.1-Croissance indéterminée	5
I.5.2-Croissance déterminée	5
I.6.Description botanique du plant de la tomate.....	5
I.7.Cycle biologique de la tomate.....	6
I.8.Production nationale et mondiale de la tomate	6
I.8.1- Production mondiale	6
I.8.2- Production nationale	7
I.9.Contraintes de la production de tomate.....	7
I.9.1-Principales maladies de la tomate.....	7
I.9.1.1-Maladies cryptogamiques	7
I.10.1.2-Maladies bactériennes.....	8
I.10.1.3-Maladies virales	9
Chapitre II-<i>Botrytis cinerea</i>, agent causal de la pourriture grise.....	11
II.1.Généralités sur le <i>B. cinerea</i>	12
II.2.Description de l'agent pathogène	12
II.3.Nomenclature et systématique	12
II.4.Cycle infectieux de <i>B. cinerea</i>	15
II.5.Symptôme et dégâts	16
II.6.Gamme d'hôte de <i>B. cinerea</i> et cycle épidémiologique.....	17
II.7.Les facteurs de développement.....	17
II.7.1- La température.....	17
II.7.2- L'humidité.....	17
II.7.3- La lumière.....	18
II.7.4- Exigences nutritives.....	18
II.8.La lutte contre <i>Botrytis cinerea</i>	18
II. 8.1- Lutte culturaux.....	18
II. 8.2- Lutte biologique.....	19
II. 8.3- Lutte chimique.....	20
Partie expérimental	21

Matériel et méthodes	22
I.1-Matériel fongique.....	22
I.2-Milieu de culture utilisée	22
I.3-Fongicides utilisés.....	22
II- Méthodes	23
II.1- Préparation de l'inoculum	23
II.2- Test de l'efficacité <i>in vitro</i> des fongicides sur le pouvoir germinatif de spores de <i>B. cinerea</i>	23
Analyses Statistiques.	23
Résultats	24
Résultats	25
1- Action d'iprodione <i>in vitro</i> sur le pouvoir germinatif de <i>Botrytis cinerea</i>	25
2- Action de thiophanate-méthyl <i>in vitro</i> sur le pouvoir germinatif de <i>Botrytis cinerea</i>	25
3- Action de fenhexamide <i>in vitro</i> sur le pouvoir germinatif de <i>Botrytis cinerea</i>	26
Discussion	27
CONCLUSION	29
References bibliographiques.....	30
Annexes.....	38

ملخص

المتسبب في العفن الرمادي للطماطم *Botrytis cinerea* ثلاث مبيدات فطرية تم تجريبيها ضد مرض لهم فعالية في تثبيط انبات الابواغ العزل *Thiophanate méthyl* و *Fenhexamide* ، *Iprodione* مخبريا ومخاطر المخلفات السامة، يستلزم *Fenhexamide* اقل من الجرعة المعتمدة. مشكلة المقاومة خاصة من CI_{50} تبني استراتيجيات أكثر لمكافحة فعالة وغير ملوثة ضد مرض العفن الرمادي للطماطم. كلمات البحث: *Botrytis Cinerea*، القدرة الانتاشية، مبيد فطري، CI_{50} ، المقاومة.

Résumé

Trois fongicides ont été testés contre *Botrytis. cinerea*, agents responsables de la pourriture grise de la tomate. In vitro, l'iprodione, le thiophanate de méthyle et le fenhexamide sont efficaces sur l'inhibition de la germination d'isolat fongique étudié $CI_{50} <$ dose homologuée. Le problème de la résistance, particulièrement au fenhexamide, et le risque de résidus toxiques imposent l'adoption d'autres stratégies de lutte plus efficaces et non polluantes

Mots clés : *Botrytis. cinerea*, pouvoir germinatif, fongicide, CI_{50} , résistants

ABSTRACT

Three fungicides were tested against *Botrytis. cinerea*, agents responsible of tomato gray mold. The *in vitro* use of iprodione thiophanate methyl and fenhexamid has shown an inhibitory effect on the germination of the studied fungal isolate $IC_{50} <$ approved dose. The problem of resistance, particularly to fenhexamid, and the risk of toxic residues impose the adoption of other control strategies more efficient and non pollutant..

Keywords: *Botrytis. cinerea*, power germ, fungicide, IC_{50} , resistant

Liste des figures

Figure 1. Histoire hypothétique de la domestication de la tomate. Les fonds de carte proviennent du DEMIS World Map Server (In Nicolas, 2010).	4
Figure 2 -Conidies observés en utilisant un microscope électronique à balayage (A). Conidiphores observés en utilisant un microscope électronique (B). Apothécie produisant des ascospores sur un sclérote (C). <i>Botrytis cinerea</i> sur milieu de culture PDA à 25°C (D). Sclérote de <i>Botrytis cinerea</i> produites sur boîte de pétri après un mois de culture sur un milieu PDA à 21°C(E.) Observation de la germination des conidies sur milieu riche PDA au microscope optique (F).....	14
Figure 3 - Cycle de développement (production asexuée) de <i>Botrytis cinerea</i> sur différentes culture (d'après Agrios, 2005).....	16
Figure 4 -Symptomatologie et morphologie de <i>Botrytis cinerea</i> . A : Attaque en serre de tomate. La proximité des plantes et la litière infectée au sol favorisent les épidémies. B : Chancre sur tige de tomate. C : Tâches fantôme sur tomate, correspondant à des infections avortées. D : Surinfection sur tomate cerise infectée par le mildiou. <i>B. cinerea</i> est également un parasite de faiblesse. E : Jeune fruit de concombre infecté. F : Infection sur mûres cultivées. G et H : Mycélium sporulant sur grappe de raisin. I : Infection sur feuille de <i>Pelargonium</i> , après contact d'une fleur infectée. J.	16
Fig.5- Efficacité (pourcentage d'inhibition) d'Iprodione sur le pouvoir germinatif de <i>Botrytis cinerea</i>	25
Fig.6- Efficacité (pourcentage d'inhibition) Thiophanate-méthyl sur le pouvoir germinatif de <i>Botrytis cinerea</i>	26
Fig.7- Efficacité (pourcentage d'inhibition) de Fenhexamide sur le pouvoir germinatif de <i>Botrytis cinerea</i>	26

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les maladies cryptogamiques de la tomate (Snoussi, 2010)	8
Tableau 2 - Les maladies bactériennes de la tomate (Snoussi, 2010).	9
Tableau 3 - Les maladies virales de la tomate (Idrenmouche, 2011).	10
Tableau 4 - Exemple de produits de lutte biologique commercialisés dans le monde pour la lutte contre <i>Botrytis cinerea</i> (d'après Elad and Stewart, 2004 ; Fravel, 2005).....	20

Liste des abréviations

C° : Degré Celsius.

% : Pourcentage.

Cm : Centimètre.

Mm : Millimètre.

pH : potentiel hydrogène

KG/ha : Kilogramme par Hectare

CE : conductivité électrique

INRA : Institut national de la recherche agronomique

UV : Ultra violet

ha : Hectare

PDA : Milieu de culture (potato Dextrose Agar)

mEq : milliéquivalent

ml : Millilitre

P : Probabilité

TEST F : Teste de fichier

DDL : Degrée de liberté

S.C.E : somme carré des écarts

CM : Carré moyen

CV : Le coefficient de variation

g : gramme

ppm : Partie par million (un ppm correspond à un rapport de 10^{-6})

Introduction

Introduction

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) compte parmi les cultures légumières les plus cultivées du monde, elle occupe la deuxième place dans la production maraîchère après la pomme de terre (ShankaraNaika, 2005). La production globale de tomates est de 130 millions de tonnes en 2016.

En Algérie, la culture de la tomate occupe une place célèbre dans l'économie agricole. La superficie consacrée annuellement à cette culture était de 33 000 ha soit une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311 Qx/ha (MADR 2009).

Cette culture a connu depuis quelques années un problème phytosanitaire majeur liées à des changements dans l'environnement comme la température la sécheresse, la salinisation et au développement des maladies, telles que celles causées par *Botrytis cinerea*, conduisant non seulement à une diminution de rendement, mais aussi à d'importantes altérations qualitative du produit.

Botrytis cinerea est le principal agent de pourriture grise qui est responsable d'importante perte de récolte. Sur le plan économique, ce champignon est par exemple considéré comme un problème phytosanitaire majeur en culture dans le monde (Martinez et al., 2005). Il peut s'attaquer à différents stades de développement de la plante et l'infection par les conidies peut se produire durant toute la saison de croissance (Kretschmer et al., 2007). On estime les pertes mondiales dues à *B. cinerea* sur vigne à 2 milliards \$ par an (Elmer et Michailides, 2004). De plus, le développement rapide et insidieux de *B. cinerea* engendre chaque année la destruction de récoltes sur des centaines d'hectares de cultures (Bolay et Pezet, 1987).

Lutte chimique demeurent aujourd'hui, la solution la plus efficace pour permettre de réduire les dommages engendrés par la pourriture grise. La technique d'application de composés chimiques la plus fréquemment utilisée jusqu'à aujourd'hui consiste à pulvériser les parties aériennes des plantes avec les fongicides (Elad et al., 2004). Afin de lutter contre la pourriture grise causée par *Botrytis cinerea*, plusieurs familles de fongicides de synthèse sont homologuées. Ces fongicides sont classés en 5 catégories selon leur mode d'action biochimique sur le champignon phytopathogène : les fongicides affectant 1) la respiration (boscalide, fluopyrame), 2) le fonctionnement des microtubules (benomyle, carbendazime), 3) l'osmorégulation (iprodione, fludioxonile), 4) la biosynthèse de méthionine (cyprodinile, mepanipyrimine) ou 5) la biosynthèse des stérols (fenhexamide, triflumizole) (Leroux et al., 2002).

Le but de cette étude est l'évaluation « *in vitro* » l'efficacité de trois fongicides de synthèse sur la capacité germinatif de *Botrytis Cinerea* agent causal de pourriture grise de la tomate.

Chapitre -I

**Plante Hôte : la tomate (*Lycopersicon
esculentum* Miller)**

I.1.Introduction

La tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller) est après la pomme de terre, le légume le plus consommé dans le monde, avec une production mondiale de 159 millions de tonnes en 2011 (FAOSTAT, 2013). Elle constitue une source non négligeable de minéraux, vitamines et certains composés naturels secondaires ayant un potentiel antioxydant important (Zidani, 2009).

I.2.Historique de la tomate

La tomate est originaire des Andes d'Amérique de Sud. Elle a été découverte en 1519 par Hermann Cortès dans le Golfe du Mexique (Harlan, 1987). La première évocation de la tomate en Europe est celle du botaniste italien Pietro Andreas Matthioli en 1544. Ce dernier la présente comme une espèce portant « des fruits aplatis et côtelés, qui de vert deviennent jaune d'or ». Une décennie plus tard, il indique qu'il existe des tomates jaunes et des tomates rouges. Dans le Vieux Monde, les premières représentations graphiques de la tomate sont celles de Rembertus Dodonaeus (Anvers, 1953), Georg Oelinger (Nuremberg, 1953) et Castore Durante (Blancard, 2009). De là, sa culture s'est propagée en Asie du Sud et de l'Est et en Moyen Orient. L'apparition de la tomate en Afrique du Nord a lieu au XVIIIème siècle au Maroc d'abord puis en Algérie et en Tunisie. On suppose que l'origine de son introduction est due aux morisques chassés d'Espagne lors de la Reconquista (Boumendjel et al 2001).

En Algérie, ce sont les cultivateurs du Sud de l'Espagne (Tomateros), qui l'ont introduite étant donné les conditions qui lui sont propices. Sa consommation a commencé dans la région d'Oran en 1905 puis, elle s'étendit vers le centre, notamment au littoral Algérois (Latigui, 1984).

I.3.Classification botanique de la tomate

La tomate, *Lycopersicon esculentum* Miller, est une plante herbacée annuelle à port buissonnant. Elle appartient à la famille des Solanacées, incluant également l'aubergine, le poivron et la pomme de terre. Cette famille comprend 2300 espèces tropicales et subtropicales originaires de l'Amérique centrale et de l'Amérique du Sud (D'arcy, 1991 cité par Doganlar, 2002a). Elle est classée selon des critères différents liés à l'aspect botanique, la composition génétique et le type de croissance (Gallais et Bannerot, 1992).

Tournefort est le premier à distinguer la tomate cultivée et à créer un nouveau genre pour classer cette espèce : le genre *Lycopersicum* (Peralta et Spooner 2007). Linné, en 1753, revoie la taxonomie de la tomate et l'intègre à nouveau dans le genre *Solanum* sous le nom spécifique de *Solanum lycopersicum*. Un an après, Miller reconsidère la classification évoquée par Tournefort et réactualise le genre *Lycopersicon* dans la quatrième édition de *The Gardener's Dictionary*.

I.4. Diversité génétique

La domestication de la tomate s'est réalisée à partir d'accessions sauvages *Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* (*S. l. cerasiforme*), qui aurait évolué directement à partir des espèces sauvages auto-incompatibles RICK (1976) (**Figure 1**).

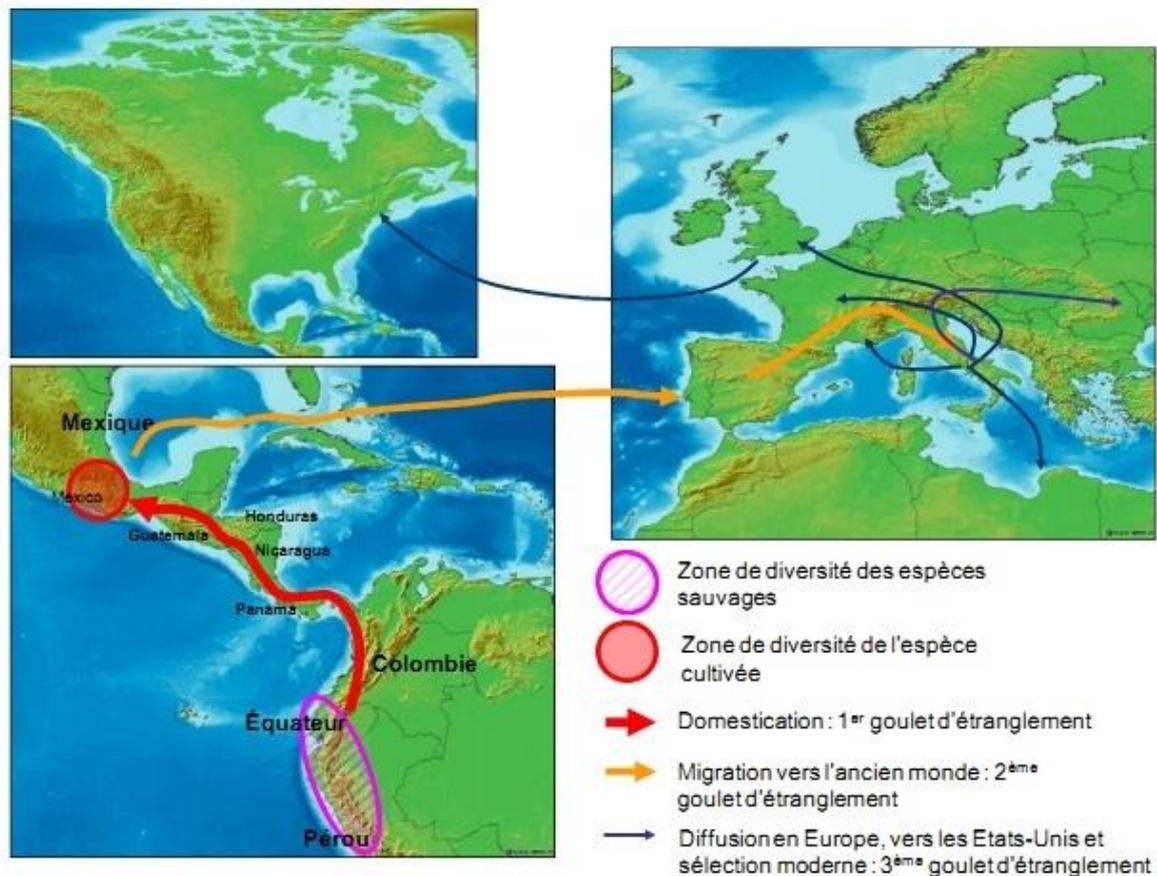


Figure 1. Histoire hypothétique de la domestication de la tomate. Les fonds de carte proviennent du DEMIS World Map Server (In Nicolas, 2010).

L'auteur suggère même que l'espèce *S. pimpinellifolium* serait issue d'une branche parallèle lors de l'évolution de la tomate. Cependant, les travaux de phylogénie sur des caractères morphologiques et sur les marqueurs moléculaires montrent une affiliation

directe entre *S. pimpinellifolium*, et *L. esculentum*. Aujourd'hui, l'espèce *L. cerasiforme* est considérée comme un type primitif de tomate cultivée ou comme une forme transitoire entre *L. cerasiforme* sauvage et *L. esculentum* cultivé. Il semblerait aussi que de nombreuses accessions soient d'origine férale (Rick et Holle 1990; Peralta et Spooner 2007).

I.5. Classification culturelle

Il existe deux types de croissance chez la tomate :

I.5.1-Croissance indéterminée : La plante produit 7 à 10 feuilles et une inflorescence, puis 3 feuilles et une seconde inflorescence et ceci indéfiniment. En générale, les tomates à croissance indéterminée ont un feuillage plus important. Il en découle que la température au sein de la culture est relativement basse. Les fruits ne souffrent pas du soleil et mûrissent plus lentement. Les variétés à croissance indéterminée nécessitent des tuteurs, des cages ou des treillis pour les appuyer.

I.5.2-Croissance déterminée : Les variétés à croissance déterminée se supportent elles-mêmes et n'ont généralement pas besoin de tuteur. La tige émet un nombre donné de bouquets de fleurs. Les feuilles sont alternes, composées, imparipennées (nombre impair de foliole) et comprennent 5 à 7 folioles aux lobes découpés. L'appareil reproducteur est formé par des inflorescences de type déterminé. Les plantes arrêtent leur croissance après la floraison (Blancard, 2009). Le type de croissance déterminée a permis le développement de la récolte mécanisée, impossible sur les autres variétés qui doivent être tuteurées.

I.6. Description botanique du plant de la tomate

La tomate est une plante annuelle buissonnante, poilue et aux tiges plutôt grimpantes. Elle est aromatique lorsqu'on la froisse. Cette plante potagère herbacée voit sa taille varier de 40 cm à plus 5 mètres selon les variétés et le mode de culture (Dumortier et al, 2010). La racine de la tomate pivotante, pousse jusqu'à une profondeur de 50 cm ou plus. La racine principale produit une haute densité de racines latérales et adventices. La tige présente un port de croissance entre érigé et prostré, elle pousse jusqu'à une longueur de 2 à 4 m, elle est pleine, fortement poilue et glandulaire. Des feuilles sont disposées en spirale, 15 à 50 cm de long et 10 à 30 cm de large. Les folioles sont ovées à oblongues, couvertes de poils glandulaires. L'inflorescence est une cyme formée de 6 à 12 fleurs. Le pétiole mesure entre 3 et 6 cm. les fleurs sont bisexuées, régulières et entre 1,5 et 2 cm de diamètre, elles poussent opposées aux - ou entre les feuilles. Le tube du calice est court et

velu, les sépales sont persistants, jaunes et courbées lorsqu'elles sont mûres. Il y a 6 étamines et les anthères ont une couleur jaune vif et entourent le style qui a une extrémité stérile allongée. L'ovaire est supère avec entre 2 et 9 carpelles. En général la plante est autogame, mais la fécondation croisée peut avoir lieu.

Le fruit est une baie charnue, de forme globulaire ou aplatie avec un diamètre de 2 à 15 cm. Lorsqu'il n'est pas encore mûr, le fruit est vert et poilu. La couleur des fruits mûrs varie du jaune au rouge en passant par l'orange. En général les fruits sont ronds et réguliers ou côtelés. Les graines sont nombreuses, en forme de rein ou de poire. Elles sont poilues, beiges, 3 à 5 mm de long et 2 à 4 mm de large. L'embryon est enroulé dans l'albumen. 1000 graines pèsent approximativement 2,5 à 3,5 g (Naika et al., 2005)

I.7.Cycle biologique de la tomate

D'après Gallais et Bannerot (1992), Le cycle végétatif complet de la graine à la graine de tomate varie selon les variétés, et les conditions de culture; il s'étend généralement en moyenne de 3,5 à 4 mois du semis, jusqu'à la dernière récolte (7 à 8 semaines de la graine à la fleur et 7 à 9 semaines de la fleur au fruit).

Le cycle de développement d'un plant de tomate peut être décrit par trois grandes phases biologiques :

1. la « phase végétative » qui correspond à la production phénologique exclusive d'organes végétatifs (feuilles et tiges) et comprise entre la levée et l'apparition de la première inflorescence ;
2. la « phase reproductive » qui correspond à la période de production des fleurs et des fruits et qui démarre à la floraison pour s'achever en fin de culture
3. la « phase de maturation » des fruits qui démarre sept à dix jours avant la récolte des premiers fruits et se termine à la récolte (Dumas, 1992 in Huat, 2008).

I.8.Production nationale et mondiale de la tomate

I.8.1- Production mondiale

Selon la FAO stat (2010), la Chine se trouve au premier rang avec une production qui dépasse les 34 millions de tonnes en 2009 avec une superficie d'environ 1,5 millions d'hectares soit l'équivalent d'un rendement de 22,67 t/ha.

I.8.2- Production nationale

En Algérie, la superficie cultivée en tomate en 1999 était de 55 210 ha et la production de 954 804 tonnes soit un rendement de 17,29 t/ha. En 2009, près de 33 000 ha sont consacrés annuellement à la culture de tomate (maraîchère et industrielle), donnant une production moyenne de 11 millions de quintaux et des rendements moyens d'environ 311 Qx/ha (MADR, 2009).

I.9. Contraintes de la production de tomate

En Algérie, comme dans la plupart des pays méditerranéen, la culture de la tomate est soumise à plusieurs contraintes biotiques et abiotiques. Ces contraintes sont liés à des changements de l'environnement, notamment les mauvaises conditions de température, l'humidité de l'air ou du sol, les déséquilibres de la nutrition, la carence ou l'excès de substances minérales, l'acidité ou l'alcalinité du sol, un mauvais drainage et au développement des maladies.

I.9.1-Principales maladies de la tomate

Comme toutes les plantes, la tomate est soumise à l'attaque de nombreux agents pathogènes qui sont responsables de diverses maladies. Elle peut ainsi être attaquée par des virus (CMV, TMV, TSWV ...) (tableau 03), des mycoplasmes (transmis par des insectes vecteurs comme la cicadelle), des bactéries (*Pseudomonas syringae*, *Xanthomonas. Spp*, *Clavibacter michiganensis...*) (tableau 02), des champignons (*Botrytis cinerea*, *Phytophthora infestans*, *Fusarium oxysporum* ...) (tableau 02).

I.9.1.1-Maladies cryptogamiques

La tomate est sujette à de nombreuses maladies cryptogamiques conduisant non seulement à une diminution du rendement, mais aussi à d'importantes altérations de la qualité de fruits (Tableau01). Certains agents phytopathogènes sont responsables d'importantes pertes de récoltes en causant diverses maladies dont : 1) pourriture des semences (*Fusarium spp.*, *Pythium spp.*, etc.), 2) fonte des semis (*Pythium spp.*, *Sclerotinia spp.*, etc.), 3) pourriture racinaire (*Fusarium spp.*, *Phytophthora spp.*, *Rhizoctonia spp.*, etc.) et 4) flétrissement des plantes (*Fusarium spp.*, *Verticillium spp.*, etc.) (Agrios 1988).

Tableau 1 : Les maladies cryptogamiques de la tomate (Snoussi, 2010)

Maladies	Agents causals	Symptôme et dégâts
Mildiou	<i>-Phytophthora infestans</i>	Grandes tâches brunes sur les feuilles et les tiges.
Alternariose	<i>Alternaria solani</i>	Tâches noires de taille variables sur les feuilles.
Fusariose	<i>-Fusarium oxysporum f.sp lycopersici.</i> <i>-Fusarium oxysporum f.sp radialis lycopersici</i>	Flétrissement des feuilles avec brunissement des vaisseaux et pourriture des racines.
Verticilliose	<i>-Verticillium albo-atrum --</i> <i>Verticillium dahliae</i>	Flétrissement des feuilles accompagné d'un jaunissement. Unilatéral suivi de dessèchement des feuilles de la base.
Anthraxose	<i>-Collectotrichum coccodes</i>	Tâches circulaires de 05 à 10 mm sur les fruits rouges.
Oïdium	<i>-Oïdium neolycopersici</i>	Feutrage blanc sur feuilles
Pourriture grise	<i>-Botrytis cinérea</i>	Feutrage gris sur les feuilles et sur les fruits

I.10.1.2-Maladies bactériennes

Dans les régions humides, nombreuses maladies s'attaquent à la tomate. Parmi celles-ci, la moucheture bactérienne, le flétrissement bactérien, la gale bactérienne et le chancre bactérien, causent de sérieux problèmes aux cultures de tomates en champs. Ces maladies bactériennes peuvent affecter gravement le rendement des tomates et, par conséquent, entraîner des pertes importantes pour le producteur.

Tableau 2 - Les maladies bactériennes de la tomate (Snoussi, 2010).

Maladies	Agents causals	Symptômes et dégâts
Moucheture bactérienne	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>tomato</i>	Petits points noirs habituellement inférieurs à 2 mm de diamètre, entourés d'une auréole jaune et par des taches noires rarement supérieures à 1mm de diamètre, entourées parfois d'un halo vert foncé, sur les fruits. (Blancard, 2009).
Gale bactérienne	<i>Xanthomonas</i> . Spp	Sur feuilles, tiges et pétioles de tomate, les lésions se présentent sous forme des zones circulaires (1-5 mm) saturées d'eau, d'abord vertes, puis brunes et nécrosées. Les fruits de tomate portent des taches subérisées de 2 à 10 mm de diamètre, circulaires et à marges saturées d'eau. (Blancard, 2009).
Chancre bactérien	<i>Clavibacter michiganensis</i> sub sp. <i>Michiganensis</i>	Petites taches chancreuses sur les folioles de couleur blanc marron. Jaunissement de la moelle en bordure des vaisseaux sur les tiges. Présence de petites taches blanches, brunes au centre sur les fruits. (Blancard, 2009).
Le flétrissement bactérien	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Flétrissement irréversible sur la partie aérien de la plante qui survient après blocage, par la bactérie de la circulation de l'eau dans la plante.

I.10.1.3-Maladies virales

Les maladies d'origine virale se traduisent chez les plantes malades par des symptômes externes multiples et variés : altération des fleurs ou des feuillages, dérèglement de croissance. La tomate est toujours exposée à l'attaque d'une grande variété de virus. Les symptômes se manifestent le plus souvent par des altérations de la pigmentation (panachures) mais aussi par des nécroses et des déformations (Tableau 3).

Tableau 3 - Les maladies virales de la tomate (Idrenmouche, 2011).

Maladies	Symptômes et dégâts
CMV Cucumber Mosaic Virus	Lorsque l'infection est précoce, on peut observer une stérilité des plantes ou une mal formation des fruits.
TICV : Tomato Infectious Chlorosis Virus	une jaunisse généralisée et un retard du développement de la plante. Apparition de nécroses ce qui entraîne de grandes pertes de rendement.
TMV : Tobacco Mosaic Virus	Virus de la mosaïque du tabac Ce dernier est caractérisé par une mosaïque verte ou blanche, des folioles gaufrés devenant filiformes et ont tendance à s'enrouler, les fruits encore vert présentent une surface légèrement bosselée avec des plages nécrotiques brunes. Les fruits murs sont parsemés de plages vertes.
ToCV Tomato Chlorosis Virus	virus de la jaunisse de la tomate. un jaunissement généralisé à l'ensemble des folioles d'une feuille et un retard du développement de la plante.
TSWV : Tomato Spotted Wilt Virus ou virus de la maladie bronzée de la tomate.	Il est à observer des mouchetures en mosaïque avec une décoloration des feuilles. Sur les tiges et pétioles, il y a apparition des tâches nécrotiques. Par contre sur les fleurs, on observe un nanisme, une déformation et une décoloration. la maladie peut entraîner un rabougrissement du plant.
TYLCV Tomato Yellow Leaf Curl Virus ou maladie des feuilles jaunes en cuillères de la tomate.	La croissance des plantes atteintes est fortement perturbée. Les feuilles sont de tailles réduites et présentent un jaunissement et ou un enroulement en forme de cuillères. En cas d'infection précoce, les plantes sont naines et ne produisent plus de fruits.

**Chapitre II-*Botrytis cinerea*, agent causal
de la pourriture grise**

II.1. Généralités sur le *B. cinerea*

À la frontière du saprophytisme et du parasitisme, *Botrytis cinerea* Pers., [forme imparfaite du *Botryotinia fuckeliana* (de Bary) Whetzel.] est le champignon Ascomycète responsable de la pourriture grise (moisissure grise, pourriture de la grappe) chez des centaines de plantes hôtes au niveau mondial.

L'étymologie de son nom fait référence directement à sa morphologie : « Botrytis » signifie « en forme de grappe », indiquant ainsi la morphologie des conidiophores, et « cinerea » renvoie à la couleur gris-cendrée de la sporulation. Le genre *Botrytis* a été décrit pour la première fois en 1729 par Pier Antonio Micheli qui la répertoria dans le « Nova Plantarum Genera » puis de manière définitive par Hennebert, comme la majorité des espèces du genre (Groves et al. 1953 ; Hennebert 1973). Le nom *Botrytis cinerea* a été proposé par Elias Magnus Fries, le botaniste suédois qui, à la suite de Linné, fut le fondateur de la systématique des champignons.

La maladie causée par cet agent pathogène engendre des pertes économiques importantes dans plusieurs types de culture (Veloukas et al., 2011), ce qui engendre des pertes pouvant atteindre 20% des récoltes mondiales (Elad et al., 2004). Sur cultures maraîchères, viticoles et horticoles, en pré- ou en post-récolte, cette maladie conduit à des pertes importantes de rendement (Fernandez-Ortuno et al. 2012). Il s'attaque aux fruits (ex. raisin, fraise) et aux légumes (ex. tomate, laitue) de diverses productions végétales, mais aussi aux plantes ornementales (ex. tournesol, rose) (Kim et Xiao, 2011 ; Leroux et al. 2002 ; Veloukas et al., 2011 ; Yin et al., 2011). En plus d'être considéré comme un champignon nécrotrophe, *B. cinerea* se caractérise principalement par son cosmopolistique, sa polyphagie, sa variabilité génétique et sa capacité de s'adapter facilement à son environnement (De Miccolis Angelini et al., 2010 ; Kretschmer et Hahn, 2008 ; Martinez et al., 2005).

II.2. Description de l'agent pathogène

Sur milieu PDA, ce champignon se présente sous forme de colonies blanches qui prennent ensuite une teinte grise. Les conidies sont ovoïdes ou rondes, hyalines et d'une taille comprise entre 11 et 15 µm. Elles sont produites dans des bouquets à l'extrémité de conidiophores ramifiés. Ce champignon peut produire également des sclérotés à contours irréguliers et noirs (1-5 mm de diamètre). La sporulation est provoquée par l'exposition à la lumière (Rosenberger, 1990). *Botrytis cinerea* peut se présenter ou survivre sous

différentes formes telles que le sclérote, le mycélium, les macroconidies, les microconidies et les ascospores.

➤ **Le mycélium**

Il est aussi une structure qui peut survivre dans les tissus morts de son hôte et est constitué d'hyphes septés. Le mycélium se présente sous forme d'une toile blanchâtre et grisâtre ou olivâtre comprenant des filaments articulés, cylindriques vésiculeux au niveau de la cloison médiane, dont le diamètre varie en fonction des conditions de développement des hyphes. (Ajouz, 2009). Quand ce mycélium devient fructifère (au bout d'un certain temps d'incubation (>7j) sur milieu nutritif, il développe des touffes de conidiophores dressés grisâtres (gris brunâtre ou gris cendré) et présentant des ramifications à leur sommet.

➤ **Le sclérote**

Il se développe dans les tissus morts de son hôte et est considéré comme la principale structure de survie du champignon durant l'hiver (Williamson *et al.*, 2007). Il est formé par une masse mycélienne dense plutôt arrondie (1-5 mm de diamètre), entouré d'un cortex rigide contenant des pigments de mélanine. Ces caractéristiques le protègent de la dessiccation, des rayons ultra-violet et des attaques de microorganismes sur de longues périodes (Williamson *et al.*, 2007).

➤ **Les macroconidies**

Les macroconidies sont ovoïdes contrairement aux microconidies (encore appelées spermaties) qui, elles, se présentent sous forme sphérique et de plus petite taille (2 à 4µm). Le fait que les macroconidies possèdent la caractéristique d'être hétérocaryotiques est très avantageux. Cette caractéristique confère au champignon *B. cinerea* une plus grande variabilité génétique et donc, la possibilité de s'adapter plus rapidement aux conditions du milieu, par exemple aux fongicides (Williamson *et al.*, 2007 ; Leroux, 2004).

➤ **Les microconidies (spermaties)**

Ce sont des gamètes mâles uninucléés jouant un rôle dans la reproduction sexuée du champignon.

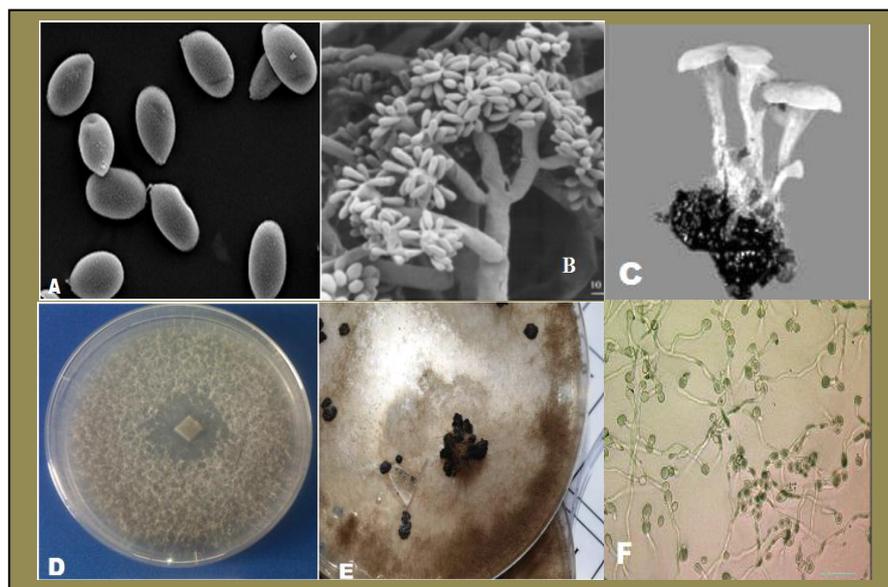


Figure 2 -Conidies observés en utilisant un microscope électronique à balayage (A). Conidiophores observés en utilisant un microscope électronique (B). Apothécie produisant des ascospores sur un sclérote (C). *Botrytis cinerea* sur milieu de culture PDA à 25°C (D). Sclérote de *Botrytis cinerea* produites sur boîte de pétri après un mois de culture sur un milieu PDA à 21°C(E.) Observation de la germination des conidies sur milieu riche PDA au microscope optique (F).

➤ Les ascospores

Au nombre de huit par asque, elles sont oblongues à elliptiques. Un asque contient huit ascospores binuclées qui germeront pour produire un mycélium (Williamson *et al.* 2007). Les asques sont produits sur des apothécies, fructifications d'ascomycètes assurant la reproduction sexuée (Ajouz, 2009).

II.3.Nomenclature et systématique

Le nom *Botrytis cinerea* a été donné par Persoon en 1801 à un agent pathogène de la vigne. Ce champignon comme beaucoup d'autres connaît une double classification :

- Une forme parfaite (téléomorphe), *Botryotinia fuckeliana* (de Barry) Wetz. C'est un Ascomycète, de la classe des Discomycètes, de l'ordre des Léotiales, famille des Sclerotiniaceae.
- Une forme imparfaite (anamorphe), *Botrytis cinerea* Pers. C'est un Deutéromycète de la classe des Hyphomycètes, de l'ordre des Moniliales, famille des Moniliaceae. C'est de Bary (1866) qui a établi une relation génétique entre *Botrytis cinerea* Pers., organisme asexué, et *Botryotinia fuckeliana* appelé au départ *Peziza fuckeliana*, organisme sexué.

Le genre *Botrytis* est très proche du genre *Sclerotinia* (83 % d'identité protéique moyenne entre les deux génomes) (Amselem *et al.* 2011). Il compte 22 espèces et un hybride. La classification ancienne, basée essentiellement sur des caractères morphologiques et les spectres d'hôtes a été révisée récemment par une approche de généalogie multiple (Staats *et al.* 2005).

Botrytis cinerea se classe comme suit :

Règne : Fungi
Division : Ascomycota
Classe : Leotiomycetes
Ordre : Helotiales
Famille : *Sclerotiniaceae*
Genre : *Botrytis*
Espèce : *Botrytis cinerea* (Hakim ALILOU, 2012).

II.4.Cycle infectieux de *B. cinerea*

Botrytis cinerea possède un cycle infectieux sexué et asexué. Il peut produire soit des spores asexuées (macroconidies) ou sexuées (microconidies), soit du mycélium ou des sclérotés (Ajouz, 2009). Durant l'hiver, *B. cinerea* se conserve principalement sous forme de sclérotés dans les débris morts de l'hôte, la plupart du temps les feuilles tombées au sol. Les sclérotés, dans des conditions particulières, développent des apothécies qui donnent des ascospores. Ces apothécies sont rarement observables mais constituent aussi une forme de dissémination du champignon. Les sclérotés germent et produisent un mycélium qui, grâce à ses appressoria, perforera la cuticule végétale. Il y aura par la suite, développement des conidiophores portant des macroconidies (spores asexuées) qui serviront d'inoculum primaire (Figure 1). Les macroconidies libérées seront principalement propagées à l'aide du vent et de la pluie, ce qui sera considéré d'inoculum secondaire. Le mycélium de *B. cinerea* peut aussi se conserver dans les débris de l'hôte durant l'hiver pour par la suite peut produire des conidies et servir d'inoculum primaire (Williamson *et al.*, 2007). Pour plusieurs fruits et légumes (ex. courgette, fraise, pomme), l'infection commence généralement sur les fleurs sénescents puis se propage sur les fruits adjacents en développement (Williamson *et al.* 2007). L'infection par *B. cinerea* peut aussi être favorisée par des blessures sur les fruits ou les feuilles (Elmer et Michailides, 2004). De plus, *B. cinerea* peut, selon les conditions environnementales, effectuer plusieurs cycles de reproduction asexuée au cours d'une saison.

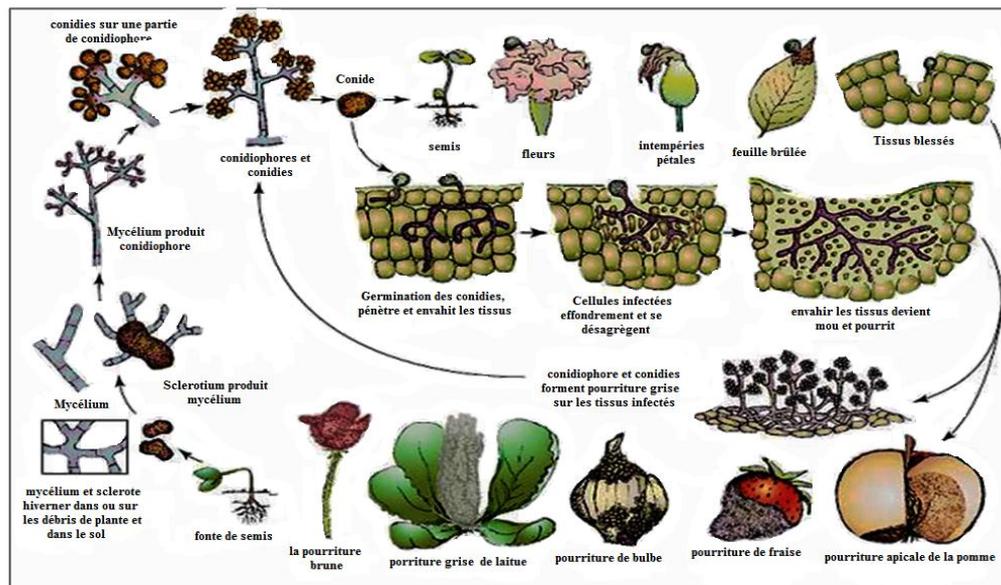


Figure 3 - Cycle de développement (production asexuée) de *Botrytis cinerea* sur différentes culture (d'après Agrios, 2005).

II.5.Symptômes et dégâts

Au niveau des blessures contaminées, *B. cinerea* a une évolution d'autant plus rapide que les fruits sont plus mûrs. Si l'atmosphère du local de conservation est très humide, un mycélium blanc et dense peut apparaître en surface et contaminer les fruits sains adjacents provoquant la formation de 'nids' de pourriture dans les caisses (Bondoux, 1992). Les symptômes qui sont les plus typiques pour les feuilles et les petits fruits sont l'apparition de taches brunes, suivis par l'apparition de feutrage grisâtre, qui sont en fait les conidies (Williamson et *al.*, 2007).



Figure 4 -Symptomatologie et morphologie de *Botrytis cinerea*. A : Attaque en serre de tomate. La proximité des plantes et la litière infectée au sol favorisent les épidémies. B : Chancre sur tige de tomate. C : Tâches fantômes sur tomate, correspondant à des infections avortées. D : Surinfection sur tomate cerise infectée par le mildiou. *B. cinerea* est également un parasite de faiblesse. E : Jeune fruit de concombre infecté. F : Infection sur mûres cultivées. G et H : Mycélium sporulant sur grappe de raisin. I : Infection sur feuille de *Pelargonium*, après contact d'une fleur infectée. J.

II.6. Gamme d'hôte de *B. cinerea* et cycle épidémiologique

B. cinerea est un champignon pathogène ubiquiste et polyphage, capable d'infecter plus de 200 espèces de plantes dicotylédones et monocotylédones, causant des pertes économiques importantes sur les cultures avant et après récolte (Rosslénbroich et Stuebler, 2000 ; Gudelj et al., 2004 ; Hubert et al., 2005). Il affecte de nombreuses productions végétales d'importance économique en culture sous serre ou en plein champ, comme par exemple: le raisin, la pomme, la poire, la cerise, la fraise et le kiwi en production fruitière, l'aubergine, la carotte, la laitue, le concombre, le poivron, la tomate, la courgette en production légumière ou des plantes ornementales comme la rose, le gerbera ou le cyclamen.

II.7. Les facteurs de développement

II.7.1- La température

La température optimale pour la croissance mycélienne varie selon les souches de *B. cinerea* mais dans l'ensemble elle est comprise entre 18 et 23°C (Jarvis, 1977). Tandis que la température optimale pour la germination des conidies était comprise entre 20 et 30 °C. À des températures inférieures à 5 °C et supérieures à 35 °C, les spores de *B. cinerea* ne germent pas après 48 heures d'incubation. A 10 °C la germination est très retardée avec seulement 60% de conidies germées 48 heures après l'inoculation. (Shiraishi et al., 1970a). Le mycélium aérien et la sporulation se développent d'une manière plus rapide à 21°C. (Thomas and Marois, 1986).

II.7.2- L'humidité

L'humidité relative et la disponibilité en eau à la surface des plantes ont toujours été considérées parmi les facteurs majeurs influençant le processus des infections dues au genre *Botrytis* (Blakman, 1980). Jarvis (1977) a rapporté que les conidies de *B. cinerea* germent à 100% à 20 °C, 15 °C et 5 °C avec 100% d'humidité. Snow (1949), estime que les conidies de *B. cinerea* ont besoin de niveaux élevés d'humidité relative pour la germination. A 95% d'humidité relative, seulement 80% des conidies de *B. cinerea* germent à 15°C et 5°C. À 90% d'humidité relative, 85% des conidies germent à 20°C, et la germination s'arrête quand les conditions d'humidité relative et de température sont plus faibles (Jarvis, 1977). Le mycélium aérien et la sporulation se développent d'une manière plus rapide à 21°C et 94% d'humidité relative (Thomas and Marois, 1986). D'après O'Neill et al., (1997), la phase de sporulation est favorisée par une forte humidité relative et

l'interruption de ces conditions entraîne un retard de sporulation. Enfin, les apothécies sont généralement produites dans des conditions fraîches et humides (Kochenko, 1972).

II.7.3- La lumière

La germination des conidies de *B. cinerea* se produit aussi bien à la lumière qu'à l'obscurité, pourvu qu'il y ait de l'eau et des nutriments en quantité suffisante (Blakeman, 1980). La sporulation de *B. cinerea* est par contre dépendante de la qualité de la lumière reçue et surtout des UV (Elad, 1997; Nicot et al., 1996; West et al., 2000). La survie des conidies dans l'air est également influencée par la qualité de la lumière. D'après Rotem et Aust (1991), les rayons UV influencent fortement la mortalité des conidies; la longévité sous UV a été réduite à 3 minutes contre 14 mois pour les conidies sèches incubées à température ambiante (Salinas et al., 1989).

II.7.4- Exigences nutritives

De nombreuses expériences ont montré que la germination de *B. cinerea* dans l'eau était significativement plus faible que dans une solution nutritive (Kosuge et Hewitt, 1964). La germination des spores de *B. cinerea* dans l'eau (absence de nutriments) a cependant été observée pour certaines souches (Doehleemann et al., 2006). La présence de nutriments tels que le glucose et le fructose favorise la germination et l'élongation du filament germinatif (Clark et Lorbeer, 1977; kosuge et Hewitt, 1964) et permettent à des conidies âgées de retrouver leur pouvoir germinatif (Shiraishi et al., 1970b).

II.8.La lutte contre *Botrytis cinerea*

II. 8.1- Lutte culturaux

Choix du site et type de plantation

Le site et la méthode de plantation doivent faire en sorte d'assurer un séchage rapide du feuillage et des fleurs afin de limiter le développement du champignon. Ainsi, il faut choisir un site où l'air circule facilement, avec une bonne exposition au soleil, sur un sol qui se draine bien. Il est préférable d'orienter les rangs dans le sens des vents prédominants, toujours pour assurer un séchage rapide du feuillage Wilcox (1993).

Irrigation

Les conditions environnementales, en particulier l'humidité relative, joue un rôle clef pour l'infection de la plante par *B. Cinerea* et le développement de la maladie. L'idée générale encore une fois est d'éviter que le feuillage reste humide longtemps. Ainsi, le CPVQ (1985) recommande d'irriguer de préférence le jour et lorsque la température dépasse 20 °C. Hofstetter (1990) recommande quant à lui d'irriguer tôt le matin par journée ensoleillée de façon à accélérer le séchage de la surface du sol et donc réduire la sporulation du champignon. L'irrigation goutte-à-goutte permet de réduire les risques de maladie en gardant le feuillage sec.

Rotation

Une façon simple d'éviter les problèmes de pourriture grise est de faire une rotation courte, c'est-à-dire de ne faire la récolte qu'une année.

Variétés résistantes

Pour l'ensemble des cultures attaquées par le champignon, il n'existe aucune variété commerciale résistante à la pourriture grise (Dik et Wubben, 2004). Cependant, il existe une différence importante dans la sensibilité à la pourriture grise pour certaines plantes.

II. 8.2- Lutte biologique

La lutte biologique a pour principe d'utiliser des micro-organismes antagonistes, champignons filamenteux, levures et bactéries, afin de réduire la densité de l'inoculum de l'agent pathogène ou d'altérer son activité pathogène.

La protection conférée par un agent biologique peut être basée sur un ou plusieurs mécanismes d'action : la compétition pour les éléments nutritifs ou l'espace, le parasitisme, la production de substances toxiques pour le pathogène (antibiose) et/ou la stimulation des défenses de la plante (Thomashow et Weller, 1996 ; Yedida et *al.*, 1999 ; Haas et *al.*, 2000).

Le champignon le plus largement étudié est le *Trichoderma* spp. Les travaux sur le biocontrôle de *B. cinerea* à l'aide de ce champignon ont débuté il y a 30 ans (Dubos et *al.*, 1978, 1982). Des produits à base de *T. harzianum* et *T. viride* ont été formulés afin d'être commercialisés en tant qu'anti-Botrytis.

Tableau 4 - Exemple de produits de lutte biologique commercialisés dans le monde pour la lutte contre *Botrytis cinerea* (d'après Elad et Stewart, 2004 ; Fravel, 2005)

Nom de produit	Antagoniste	Utilisation
Trichodex	<i>Trichoderma harzianum</i>	En vignes et cultures sous serre
Binab	<i>Trichoderma. h</i> et <i>Trichoderma polysporum</i>	Culture de fraise
Mycostop	<i>Streptomyces griseoviridis</i>	En serre sur concombre, tomate, poivron, laitue et plantes ornementales
Plantshield	<i>Trichoderma harzianum</i>	Culture sous serre
Botry-Zen	<i>Ulocladium oudemansii</i>	Vignes
Aspire	<i>Candida oleophila</i>	Fruits après récolte
Yield Plus	<i>Cryptococcus albidus</i>	Fruits après récolte
Bio-save	<i>Pseudomonas syringae</i>	Fruits après récolte
Serenade	<i>Bacillus subtilis</i>	Cultures sous serre et de plein champ

II. 8.3- Lutte chimique

Les fongicides anti-*Botrytis* utilisés en végétation ont largement évolué depuis le début des années 1970, où les premières matières actives apparues sur le marché français pour lutter contre la pourriture grise furent le folpel, le captafol, l'euparène (dichlofluanide) et le thirame. Des progrès ont été réalisés dans les années 1970 avec la commercialisation des benzimidazoles, des thiophanates, et des dicarboximides à partir de 1976 (Leroux et *al.*, 1999). La plupart des fongicides affectent directement des fonctions essentielles, comme par exemple la respiration, la biosynthèse des stérols ou la division cellulaire (Leroux, 2004). La plupart des fongicides anti-*Botrytis* utilisés ont une action directe sur le champignon. Les substances actives comme le folpel, le thirame, le fluazinam et le dichlofluanide inhibent la respiration mitochondriale. En altérant la synthèse de l'acide désoxyribonucléique (ou ADN), l'iprodione, le procymidone, le vinchlozoline et le fludioxonil entraînent une instabilité mitotique qui conduit à une perturbation de la croissance des hyphes mycéliens. Le carbendazime, le bénomyl et le thiophanate de méthyle sont également capables d'inhiber la synthèse d'ADN et perturbent la réplication et la formation de microtubules. La biosynthèse des stérols est affectée chez le champignon soumis au fenhexamide, quand celle de la méthionine est perturbée suite à l'application du pyriméthanol, du cyprodinil et du mépanipyrim (Elad et *al.*, 1992 ; Rosslenbroich et Stuebler, 2000).

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I- Matériel

I.1-Matériel fongique

L'isolat de *B. cinerea* utilisé dans cette étude a été échantillonné en 2016 à partir de feuilles et tiges de pieds de tomate présentant des symptômes de pourriture grise. La souche provenant de serres localisées dans la plaine du Nord-Ouest algérien « Mostaganem ». Cette souche a été monosporee et est conservée sous forme de suspensions de spores concentrées ($>10^9$ spores/ml) dans le glycérol.

I.2-Milieu de culture utilisée

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

Le choix d'un milieu de culture est basé sur son adéquation pour un bon développement du pathogène. La composition du milieu « PDA » (Potato Dextrose Agar) est la suivante :

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

I.3-Fongicides utilisés

Les fongicides les plus commercialisés en Algérie pour lutter contre la pourriture grise ont été retenus et utilisés aux doses homologuées.

Tableau 2: Caractéristiques des fongicides testés

Nom commercial	Matière active	Type de formulation	Famille	Dose appliquée
Corval	Iprodione	Poudre mouillable (W.P)	Dicarboximides	150 g/hl
Pelt 44	Thiophanate-méthyl 70%	Poudre mouillable (W.P)	Benzimidazoles	200 g/hl
Teldor	Fenhexamide	Granulés dispersables (WG)	Hydroxyanilides	1 - 1,5 kg/ha

II- Méthodes

II.1- Préparation de l'inoculum

L'isolat *B. cinerea* est cultivé sur le milieu PDA quinze jours à l'obscurité et à 25°C afin de favoriser la croissance mycélienne. La surface chargée de spores est alors raclée stérilement à l'aide d'une spatule métallique, le mycélium et les spores sont mises en suspension dans l'eau distillée stérile, puis agitées pendant 5 min. La suspension est filtrée pour séparer les spores des fragments mycéliens. Après comptage avec une lame de malassez, la suspension sporale est ajustée avec de l'eau distillée stérile de façon à avoir une concentration finale de 10^9 spores par ml.

II.2- Test de l'efficacité in vitro des fongicides sur le pouvoir germinatif de spores de *B. cinerea*

Pour cette étude quatre concentrations ont été choisies de chaque fongicide. En effet, pour le fongicide Iprodione, les concentrations choisies étaient 0.005, 0.01, 0.05 et 0.5 g/l.

Pour le deuxième fongicide Thiophanate-méthyl les concentrations testées ont été respectivement de 0.01, 0.05, 0.1 et 0.5 g/l.

Le troisième fongicide Fenhexamide les concentrations testées sont 0.05, 0.1, 0.5 et 5g/l.

Les volumes finaux des solutions fongicides ont été préparés par des dilutions avec les volumes d'eau distillée stérile. Les fongicides et le sel se présentent en général sous forme concentrée. Les suspensions sont ensuite incorporées dans des eppendorf à laquelle le fongicide, le sel ou un mélange des deux a été ajouté. Les eppendorf ont été placées à l'obscurité à 25 °C. Après 24 et 48 heures, le comptage des spores germées a été effectué sur un total de 100 spores à l'aide d'une cellule de Malassez, à raison de trois comptages par doses et par fongicide. La spore était considérée comme germée si la longueur du tube germinatif était apparue. Pour chaque traitement, trois eppendorf ont été utilisées. Les boîtes témoins ont été préparées dans les mêmes conditions mais sans ajout de fongicide.

Analyses Statistiques.

Les résultats sont exprimés sous forme des moyennes \pm SD (Standard Deviation = Ecart type). Toutes les analyses statistiques ont été analysées par (STATBOX 6.0.4, Grimmertot). Les données ont été analysées par les deux sens factoriels. Des comparaisons des moyennes et des interactions ont été réalisées par le test "Duncan's multiple range" au seuil de 5 %.

Résultats

Résultats

1- Action d'iprodione *in vitro* sur le pouvoir germinatif de *Botrytis cinerea*

Dans les essais *in vitro*, l'isolat de *Botrytis cinerea* a montré également une sensibilité importante vis-à-vis de l'Iprodione (fig. 5): l'inhibition est supérieure à 70 % pour des faibles concentrations. Toutefois, à la forte concentration 0.5g/l, l'inhibition totale de la germination arrive 88%. (DL_{50} <dose appliquer).

L'analyse de la variance des CI50 de l'iprodione sur la germination de *Botrytis cinerea* montre que l'effet fongicide est significatif ($p=0.035$).

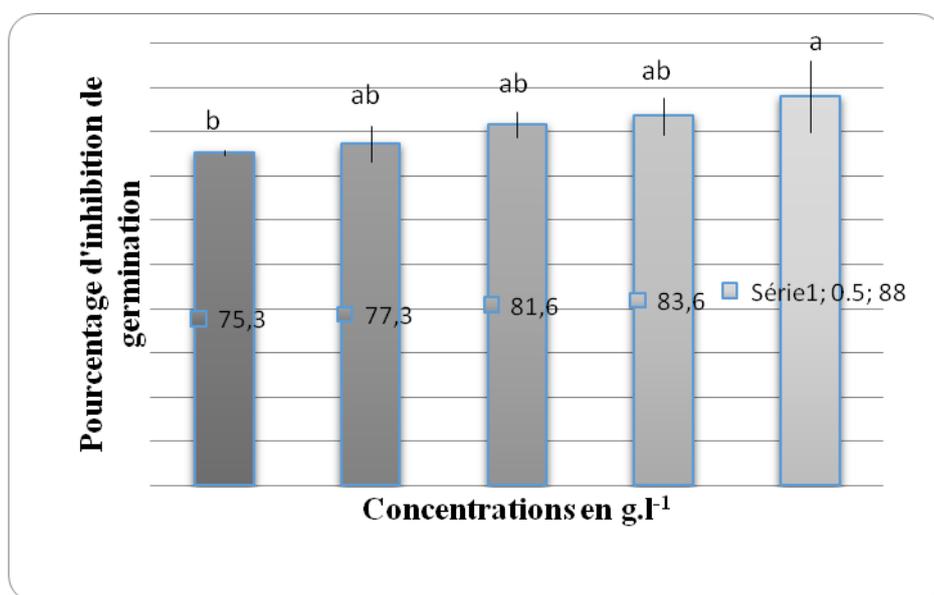


Fig.5- Efficacité (pourcentage d'inhibition) d'Iprodione sur le pouvoir germinatif de *Botrytis cinerea*

2- Action de thiophanate-méthyl *in vitro* sur le pouvoir germinatif de *Botrytis cinerea*

Le thiophanate-méthyl est très efficace sur la germination (fig. 6). L'inhibition de la germination de spore de *Botrytis cinerea* croît avec un pourcentage de 79.6, 83, 87.3 et 92% respectivement pour les concentrations de 0.01, 0.05, 0.1 et 0.5 g/l par rapport au témoin. L'inhibition de la germination des spores nécessite des concentrations moins élevées. Dans ce cas, les valeurs de la CI_{50} déterminées sont très faibles et presque voisines. Elles varient entre 0.01 et 0.5 g/l.

En outre, le thiophanate méthyl s'est montré plus fongitoxique sur la germination par rapport au iprodione et au fenhexamide.

L'analyse de la variance des CI50 de l'Iprodione sur la germination de *Botrytis cinerea* montre que l'effet fongicide est significatif ($p=0.017$).

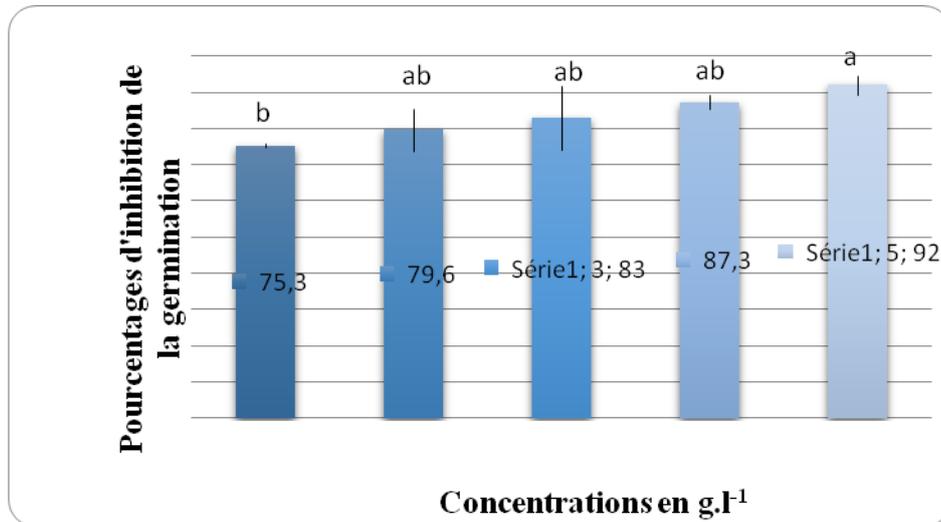


Fig.6- Efficacité (pourcentage d'inhibition) Thiophanate-méthyl sur le pouvoir germinatif de *Botrytis cinerea*

3- Action de fenhexamide *in vitro* sur le pouvoir germinatif de *Botrytis cinerea*

Le fenhexamide a montré aussi un pourcentage d'inhibition élevé, supérieur à 75%. (Fig. 7). Dans ce cas, *Botrytis cinerea* est très sensible mais, la concentration inhibitrice de 5 g.l⁻¹ dépasse la dose homologuée de 150 g/hl.

L'analyse de la variance des CI50 de l'iprodione sur la germination de *Botrytis cinerea* montre que l'effet fongicide est significatif ($p=0.018$).

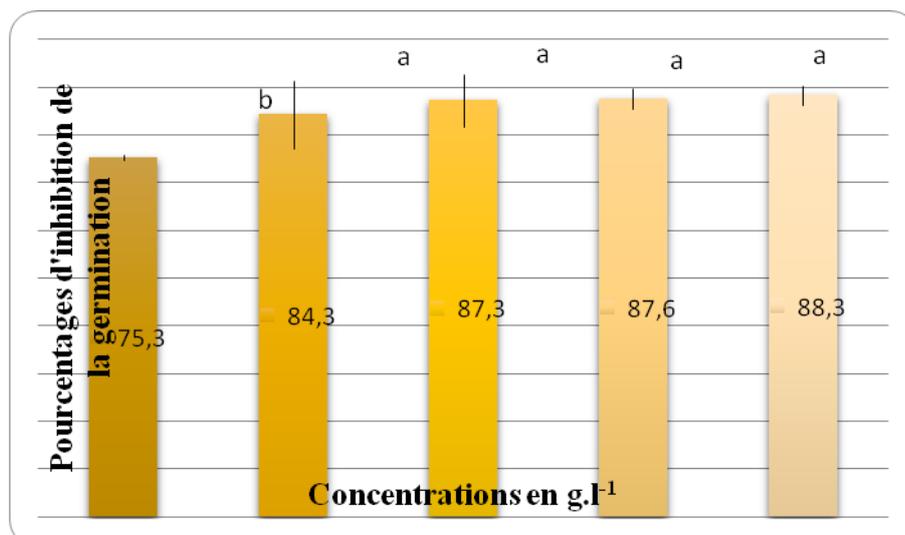


Fig.7- Efficacité (pourcentage d'inhibition) de Fenhexamide sur le pouvoir germinatif de *Botrytis cinerea*

Discussion

Dans la lutte contre *B. cinerea* chez la tomate, les fongicides sont généralement appliqués selon leurs mode d'action. La plupart des fongicides anti-Botrytis affectent directement des fonctions essentielles, comme par exemple la respiration, la biosynthèse des stérols ou la division cellulaire (Leroux, 2004).

L'étude *in vitro* de l'efficacité de trois fongicides sur le pouvoir germinatif de l'isolat de *Botrytis cinerea* a été évaluée à 25 C° de température.

Les trois fongicides sont nettement efficaces sur la germination des spores avec des valeurs des CI₅₀ faibles. En se basant sur les valeurs des CI₅₀, le thiophanate-méthyl s'avère le plus actif sur la germination de *Botrytis cinerea*.

L'iprodione présente *in vitro* une action importante sur la germination. Les spores en germination consomment beaucoup d'énergie pour se développer et l'iprodione inhibe la synthèse d'ATP au niveau de la chaîne respiratoire. Cette baisse de production d'énergie entraîne une réduction de la formation du tube germinatif, ce qui sensibilise la spore à l'action du fongicide (Anesiadis et al 2003). Une action anti-germinative a été rapportée par plusieurs auteurs (Wong et al 2001; Ypema et al 1999), et a été aussi signalée pour d'autres fongicides à base de strobilurines, comme le trifloxystrobine (Reuveni et al 2002). Selon la littérature, l'iprodione entraîne une instabilité mitotique qui conduit à une perturbation sur les divisions cellulaires, la synthèse d'ADN et d'ARN et le métabolisme

Parallèlement, le thiophanate de méthyle est nettement très efficace sur la germination des spores de *Botrytis cinerea* avec des valeurs des CI₅₀ faibles. Ces résultats sont en concordance avec ceux Serghat et al (2004) et Ennafah. B (1999). Chérif et al. (2001) ont montré la grande efficacité du méthyl-thiophanate (100 g/hl⁻¹) et de la carbendazime (25 mg.l⁻¹) vis-à-vis de la germination, de la croissance mycélienne et de la sporulation d'un isolat local de *F. sambucinum*.

Les fongicides appartenant aux benzimidazoles agissent de façon systémique et ils possèdent un seul site d'action. Ce sont des agents anti-mitotiques qui interfèrent spécifiquement avec la division nucléaire et avec d'autres processus liés à l'activité des microtubules et principalement avec la tubuline (protéine dont l'assemblage forme les microtubules) (Leroux 1993). Les microtubules sont des constituants majeurs du cytosquelette et du fuseau achromatique et toute substance susceptible d'interférer avec la formation ou le fonctionnement de ces microtubules bloque les divisions cellulaires et

l'élongation des hyphes mycéliens (Paternelle et Lhoutellier 2002; Leroux 2003). Dans ce sens, le méthyl-thiophanate agit plus sur l'élongation du tube germinatif que sur la germination (Ragsdal et *al* 1991).

Le fenhexamide est un botryticide qui réduit la synthèse de l'ergosterol par l'inhibition de la 3-céroréductase (Debieu et *al.*, 2000). Il s'agit d'un hydroxyanilide employé depuis 1997 sur les cultures de vigne, fraisier ou tomate pour prévenir l'apparition de la pourriture grise. La biosynthèse des stérols est affectée chez le champignon soumis au fenhexamide, quand celle de la méthionine est perturbée suite à l'application du pyriméthanil, du cyprodinil et du mépanipirim (Elad et *al.*, 1992; Rosslenbroich et Stuebler, 2000).

Les résultats de notre étude indiquent que, le fenhexamide inhibe la germination près de 80% pour des doses comprise entre 0.05 et 0.5g/l. Néanmoins, lorsque le produit appliqué a des concentrations dépassant trois fois la dose homologuée, cette dernière ne permet pas d'inhiber totalement la germination de spore, puisque l'inhibition atteind 88% dans la gamme des concentrations allant à 5g/l. Cet isolat exprime une résistance au fenhexamide. Ce résultat concorde avec les travaux de Korolev et *al.*, (2009) sur 712 isolats de *B. cinerea* collectés, ces auteurs ont montré que 0,2% de l'isolat sont résistants au fenhexamide. Parallèlement, Zhang et *al.*, (2007) remarquent que sur 200 isolats testés, une résistante de 10% des isolats naturels de *B. chinera* au fenhexamide a été observées.

CONCLUSION

À l'issue de cette étude, trois fongicides ont été révélées in vitro sur la germination des conidies de *B. chinera* agent responsable de la pourriture grise de la tomate.

Les fongicides, représentés par le l'iprodione, le thiophanate de méthyle et le fenhexamide, ont donné des résultats très satisfaisants sur la germination de *B.cinerea* étudié, où une inhibition atteindre près de 88%.

Néanmoins, l'utilisation répétée de fenhexamide et leur persistance pendant de longues périodes de conservation ont probablement entraîné une pression de sélection continue et conduit à l'apparition de souches résistantes.

Cependant, pour être plus affirmatif, il serait plus intéressant de tester ces produits sous serre et en plein champ afin de voir leur potentiel pour une utilisation en stratégie de lutte contre ce pathogène.

La maîtrise des maladies nécessite donc l'adoption d'autres stratégies de lutte plus efficaces et non polluantes : biologique, génétique, biotechnologique ou encore raisonnée et intégrée.

Références bibliographiques

- **Agrios, G.N., 1988**-Plant Pathology.3e éd.Academic Press, New-York.803 pp.
- **Agrios, G.N., 2005**-Plant Pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press, USA UK.
- **Ajouz, S., 2009**-Estimation du potentiel de résistance de *Botrytis cinerea* à des biofongicides. PhD. Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, Avignon, France, 198p.
- **Amselem, J., C. A. Cuomo, J. A. L. van Kan, M. Viaud, E. P. Benito, A.**
- **Anesiadis. T, George Karaoglanidis, K. Tzavella-Klonari 2003**-Protective, Curative and Eradicant Activity of the Strobilurin Fungicide Azoxystrobin against *Cercospora beticola* and *Erysiphe betae*. Journal of Phytopathology 151(11-12):647 - 651 .
- **Couloux, P. M. Coutinho, R. P. de Vries, P. S., 2011**-Genomic analysis of the necrotrophic fungal pathogens *Sclerotinia sclerotiorum* and *Botrytis cinerea*.Plos Genetics 7 (8).
- **Blakeman, J.P., 1980**-Behaviour of conidia on aerial plant surfaces, p. 115-151, in: The Biology of Botrytis. J. R. Coley-smith, K. Verhoeff and W. R. Jarvis, eds. Academic Press, London.
- **Blancard, D., 2009**-Les maladies de la tomate: identifier, connaître, maîtriser. Quae éditions, pp 679
- **Bondoux, P., 1992**-Maladies de conservation des fruits à pépins: pommes et poires. INRA. Paris, France. 173 p.
- **Boumendjel M. & Boutebba A., 2001**-Effet des traitements thermiques sur les antioxydants de la tomate. Synthèse (Annaba) 11:78-85
- **Bolay, A., and Pezet, R. 1987**. Problèmes actuels de la lutte contre les maladies de la vigne. Revue Suisse de Viticulture, Arboriculture et Horticulture 19: 21-24.
- **Cherif, M., N. Omri, M.R. Hajlaoui, M. Mhamdi and A. Boubaker, 2001**. Effect of some fungicides on *Fusarium roseum* var. *sambucinum* causing potato tuber dry rot and on *Trichoderma* antagonists. Ann. IINRAT, 74: 131-149.
- **Clark, C.A., and Lorbeer, J.W., 1977**-Comparative nutrient dependency of *Botrytis squamosa* and *Botrytis cinerea* for germination of conidia and pathogenicity on onion leaves. Phytopathology 67: 212-218.

- **CPVQ** (Conseil des Productions Végétales du Québec) **1985**-Petits fruits. Culture. Agdex 230/20. Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Québec, Québec. 35 pages.
- **D'Arcy W.G., 1991**-The Solanaceae since 1976, with a review of its biogeography. In J.G. Hawkes, R.N. Lester, M. Nee, N. Estrada-R, Solanaceae. 111 Taxonomy. Chemirtry Evolution. Pub. Royal Botanic Gardens, pp. 75-137.
- **De Miccolis Angelini, R. M., Habia, W., Rotolo, C., Pollastro, S., and Faretra, F., 2010**- Selection, characterization and genetic analysis of laboratory mutants of *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) resistant to the fungicide boscalid. Eur. J. Plant Pathol. 128:185-199.
- **Dik, A.J., and Wubben, J.P., 2004**-Epidemiology of *Botrytis cinerea* diseases in greenhouses, p. 319-331, in: Botrytis: biology, pathology and control. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- **Doehlemann, G., Berndt, P., and Hahn, M., 2006**-Trehalose metabolism is important for heat stress tolerance and spore germination of *Botrytis cinerea*. Microbiology 152: 2625-2634.
- **Doganlar, S., A. Frary, M. C. Daunay, R. N. Lester and S. D. Tanksley., 2002b**- Conservation of gene function in the solanaceae as revealed by comparative mapping of domestication traits in eggplant. Genetics 161: 1713 1726.
- **Dubos B, Bulit J, Bugaret Y, Verdu D., 1978**-The possibilities of using *Trichoderma viride* for the biological control of *Botrytis cinerea* and *Phomopsis viticola* on grapevines. Comptes Rendus des Seances de l'Academie d'Agriculture de France 14, 1159-68.
- **Dubos B., Jailloux F. et Bulit J., 1982**-Microbial antagonism in the control of grey mould of grapevine. EPPO Bulletin, 12, 171-175.
- **Dumas, Y 1992**-Crop management for processing tomatoes in the year 2000. Acta Horticulturae 301: 117-134.
- **Dumortier P., Evrad M., Maiche M., Nicolas A., De Ridder C. et Costa Santos Baltazar S., 2010**- Biodiversité chez la tomate, stratégie de conservation et valorisation de collection « luc fichot ». Rapport final, Phytotechnie et horticulture. Gembloux agro bio tech., 105 p.
- **Debieu, D.; Bach, J.; Hugon, M.; Malosse, C. & Leroux, P. (2001)**. The hydroxyanilide fenhexamid, a new sterol biosynthesis inhibitor fungicide efficient

- against the plant pathogenic fungus *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*). *Pest Manag. Sci.* 57(11): 1060-1067.
- **Elad, Y., 1997**-Effect of filtration of solar light on the production of conidia by field isolates of *Botrytis cinerea* and on several diseases of greenhouse-grown vegetables. *Crop Protection* 16: 635-642.
 - **Elad, Y., and Stewart, A., 2004**-Microbial control of *Botrytis* spp, p. 223-241, in: *Botrytis: biology, pathology and control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
 - **Elad, Y., Yunis, H., and Katan, T., 1992**-Multiple fungicide resistance to benzimidazoles, dicarboximides and diethofencarb in field isolates of *Botrytis cinerea* in Israel. *Plant Pathol.* 41:41-46.
 - **Elmer, P.A.G., and Michailides, T.J., 2004**-Epidemiology of *Botrytis cinerea* in orchard and vine crops, p. 243-272, in: *Botrytis: biology, pathology and control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
 - **Elmer, P.A.G., and Reglinski, T 2006**-Biosuppression of *Botrytis cinerea* in grapes. *Plant Pathology* 55: 155-177.
 - **Ennafah (B.) 1999**- Étude des *Helminthosporium* du riz : pouvoir pathogène, interactions compétitives, contamination et mesures de lutte chimique. - Thèse Doct. Natl., Univ. Ibn Tofaïl, Fac. Sci. Kénitra, Maroc, 105 p.
 - **FAO 1997, 2005, 2010, 2013**-Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Division statistique. Web. <http://faostat.fao.org/default.aspx>.
 - **Fernández-Ortuño, D. and G. Schnabel., 2012**-First report of thiophanate-methyl resistance in *Botrytis cinerea* on strawberry from South Carolina. *Plant Dis.* 96:1700.
 - **Fravel, D.R 2005**-Commercialization and implementation of biocontrol. *Annual Review of Phytopathology* 43: 337-359.
 - **Gal-Hemed, I., L. Atanasova, M. Komon-Zelazowska, I. S. Druzhinina, A. Viterbo and O. Yarden., 2011**-Marine Isolates of *Trichoderma* spp. as Potential Halotolerant Agents of Biological Control for Arid-Zone Agriculture. *Applied and Environmental Microbiology* 77 (15): 5100– 5109.
 - **Gallais A., et Bannerot H., 1992**-Amélioration des espèces végétales cultivées. Objectifs et critères de sélection. Ed. INRA. Paris.

- **Groves, J. W., and Loveland, C. A., 1953**-The connection between *Botryotinia fuckeliana* and *Botrytis cinerea*. Mycologia 45:415-425.
- **Gudelj I., Fitt B. D. L. et van den Bosch F., 2004**-Evolution of sibling fungal plant pathogens in relation to host specialization, Phytopathol., 94, 789-795.
- **Haas D, Blumer C & Keel C., 2000**-Biocontrol ability of fluorescent *Pseudomonas* genetically dissected: importance of positive feedback regulation. Current Opinion in Biotechnology 11:290-7.
- **Hakim alilou., 2012**- Etude phytochimique et antifongique de deux plantes du Sud du Maroc : *Asteriscus graveolens* subsp. odorus (Schousb.) Greuter et *Asteriscus imbricatus* (Cav.) DC. Thèse de doctorat es Sciences Biologiques de Université Ibn Zohr d'Agadir.215p.
- **Harlan J. R., 1987**. Les plantes cultivées et l'homme, éd. ACCT/CILF/PUF, , p. 299-300.
- **Henbest, R.G.C., 2000**-Spectral filters for the control of *Botrytis cinerea*. Annals of Applied Biology 136: 115-120.
- **Hennebert GL., 1973**-Botrytis and Botrytis-like genera. Persoonia 7: 183-204
- **Hofstetter, B.,1990**-Nature's fungicides may banish Botrytis. New Farm, mai-juin 1990:31-32,41.
- **Hubert J., Stejskal V., Munzbergova Z., Kubatova A., Vanova M. et Zdarkova E., 2005**. Mites and fungi in heavily infested stores in the Czech Republic, J. Econ. Entomol., 97, 2144-2153.
- **Idrenmouche S., 2011**- Biologie et écologie de la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera : Gelechiidae) dans la région de Boumerdes. Mémoire Magistère en Sciences Agronomiques. E.N.S.A. El Harrach, 103p.
- **Jarvis, W.R., 1977**-Botryotinia and Botrytis species: Taxonomy, Physiology, and Pathogenicity. Research Branch, Canada Department of Agriculture, Ottawa, Canada, p. 195.
- **Kretschmer, M., Kassemeyer, H.H., and Hahn, M. 2007**. Age-dependent grey mould susceptibility and tissue-specific defence gene activation of grapevine berry skins after infection by *Botrytis cinerea*. Journal of Phytopathology 155: 258-263.

- **Kim, Y.K., and Xiao, C.L., 2011**-Stability and fitness of pyraclostrobin and boscalid-resistant phenotypes in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. *Phytopathology* 101, 1385-1391.
- **Kochenko. 1972.**, Features of sclerotial germination of *Botrytis cinerea* Fr. *Mykologia Fitopatologia* 6: 256-258.
- **Korolev, N., Mamiev, M., Zahavi, T., and Elad, Y. 2009.** Resistance to fungicides among *Botrytis cinerea* isolates from tomato and other hosts in Israel. *Acta Horticulturae* 808: 367-376.
- **Kosuge, T., and Hewitt, W.B. 1964.** Exudates of grape berries and their effect on germination of conidia of *Botrytis cinerea*. *Phytopathology* 54: 167-172.
- **Kretschmer, M., and Hahn, M., 2008**-Fungicide resistance and genetic diversity of *Botrytis cinerea* isolates from a vineyard in Germany. *J. Plant Dis. Prot.* 115, 214–219.
- **Latigui A., 1984**-Effets des différents niveaux de fertilisation potassique sur la fructification de la tomate cultivée en hiver sous serre non chauffée. Thèse de magister. INRA El-Harrach, Algérie.
- **Leroux P., 2003**-Mode of action of agrochemicals towards plant pathogens. *Comptes Rendus de Biologies* 326 : 9-21.
- **Leroux P., Moncomble D., 1993a** - Lutte chimique contre la pourriture grise de la vigne. Passé, présent, futur (1re partie). - *Phytoma* , (450), 27-30.
- **Leroux, P., 1999**-Patterns of cross-resistance to fungicides in *Botryotinia fuckeliana* (*Botrytis cinerea*) isolates from French vineyards. *Crop Protection*. 18, 687-697.
- **Leroux, P., 2004**-Chemical control of *Botrytis* and its resistance to chemical fungicides, p. 195-222, in: *Botrytis: biology, pathology and control*. Y. Elad, B. Williamson, P. Tudzynski and N. Delen, eds. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands.
- **Leroux P, Fritz R, Debieu D, Albertini C, Lanen C, Bach J, Gredt M, Chapeland F (2002)** Mechanisms of resistance to fungicides in field strains of *Botrytis cinerea*. *Pest Manag Sci* 58:876–888.
- **Leroux P., D. Debieu, C. Albertini, A. Arnold, J. Bach, F. Chapeland, E. Fournier, R. Fritz, M. Gredt, T. Giraud, M. Hugon, C. Lanen, C. Malosse and G. Thebaud, 2002.** The hydroxyanilide botryticide fenhexamid: mode of action

- and mechanism of resistance. In: Modern Fungicides and Antifungal Compounds III. (H-W. Dehne, U. Gisi, K. H. Kuck, P. E. Russel, H. Lyr, ed.), AgroConcept GmbH, Bonn, Germany 29–40.
- **MADR., 2009**-Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural , Direction des Statistiques.62.
 - **Martinez, F., Dubos, B. et Fermaud, M., 2005**-The role of saprotrophy and virulence in the population dynamics of *Botrytis cinerea* in vineyards. *Phytopathology* 95 : 692-700.
 - **Naika S., Jeude J.V.L., Goffau M., Hilmi M., Dam B.V., 2005**- Agrodoc 17, la cultura de la tomate, production, transformation et commercialisation Editor: Barbara van Dam / la culture de la tomate. 105 pages.
 - **Nicolas R., 2010**-Analyse du polymorphisme moléculaire de gènes de composantes de la qualité des fruits dans les ressources génétiques sauvages et cultivées de tomate ; recherche d'associations gènes/QTL. Thèse de doctorat en Sciences de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique de Montpellier.275p.
 - **Nicot, P.C., and Baille, A. 1996**. Integrated control of *Botrytis cinerea* on greenhouse tomatoes, p. 169-189, in: Aerial plant surface microbiology. C. E. Morris, P. C. Nicot and C. Nguyen-The, eds. Plenum Press, New York, USA.
 - **O'Neill, T.M., Shtienberg, D., and Elad, Y. 1997**-Effect of some host and microclimate factors on infection of tomato stems by *Botrytis cinerea*. *Plant Disease* 81: 36-40.
 - **Paternelle, M.C. et C. Lhoutellier. 2002**. Index phytosanitaire ACT. Association de coordination technique agricole, Paris, France. 788 p.
 - **Peralta, I. E. and D. Spooner., 2007**-History, origin and early cultivation of tomato (Solanaceae).Genetic improvement of Solanaceous crops.M. K. Razdan and A. K. Mattoo. Enfield (NH), Science Publisher. 2: 1-24.
 - **Ragsdal (N.N.), Sisler (H.D.) 1991**- The nature, modes of action and toxicity of fungicides. In Pimentel (D.) (Ed.) *CRC Handbook of pest management in agriculture*, 2. Boca Raton: CRC Press, 2nd ed. (757 p).7
 - **Reuveni, m. & sheglov, D. 2002**-Effects of azoxystrobin, difenoconazole, polyoxin B (polar) and trifloxystrobin on germination and growth of *Alternaria alternata* and decay in red delicious apple fruit. *Crop Protection* 21:951-955..
 - **Rick , C. M., 1976**-Tomato *Lycopersicon esculentum* (Solanaceae). Evolution of Crop Plants. N. W. Simmonds, Longman: 268-273.

- **Rick, C.M., J.W. DeVerna, and R.T. Chetelat, 1990-** Experimental introgression to the cultivated tomato from related wild nightshades. pp. 19-30. In: A.B. Bennett and S.D. O'Neill (eds.). Horticultural Biotechnology, Wiley-Liss, N.Y.
- **Rosenberger, D.A. 1990-**Postharvest diseases (Blue mold-Gray mold), in: Compendium of Apple and Pear Diseases, A.L. Jones and H.S. Aldwinkle, eds., APS Press The American Phytopathological Society, USA pp.53-58.
- **Rosslenbroich, H.-J. et Stuebler, D., 2000-***Botrytis cinerea* - history of chemical control and novel fungicides for its management. Crop Protection 19 : 557-561
- **Rotem, J., and Aust, H.J., 1991-**The effect of ultraviolet and solar radiation and temperature on survival of fungal propagules. Journal of Phytopathology 133: 76-84.
- **Salinas, J., Glandorf, D.C.M., Picavet, F.D., and Verhoeff, K., 1989-**Effects of temperature, relative humidity and age of conidia on the incidence of spotting on gerbera flowers caused by *Botrytis cinerea*. Netherlands Journal of Plant Pathology 95: 51-64.
- **Serghat (S.), Mouria (A.), Ouazzani Touhami (A.), Douira (A.) 2004-** In vivo effect of some fungicides on the development of *Pyricularia grisea* and *Helminthosporium oryzae*. - Phytopathol. Mediterr., , 41(3), 235-245.
- **Shiraishi, M., Fukutomi, M., and Akai, S., 1970a-**Effects of temperature on the conidium germination and appressorium formation of *Botrytis cinerea* Pers. Annals of the Phytopathological Society of Japan 36: 234-236.
- **Snoussi S. A., 2010-** Etude de base sur la tomate en Algérie. Rapport de mission Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient. Rome, 52 p.
- **Snow, D., 1949-**The germination of mould spores at controlled humidities. Annals of Applied Biology 36: 1-13.
- **Staats, M., P. van Baarlen, and J. A. L. van Kan., 2005-**Molecular phylogeny of the plant pathogenic genus *Botrytis* and the evolution of host specificity. Molecular Biology and Evolution 22 (2):333-346.
- **Thomas, C.S., and Marois, J.J., 1986-**Effect of wind and relative humidity on sporulation and external mycelium formation of *Botrytis* on grape. Phytopathology 76: 1114

- **Thomashow, L. S. & Weller, D. M., 1996**-Current concepts in the use of introduced bacteria for
- **Veloukas, T., M. Leroch, M. Hahn, and G. S. Karaoglanidis., 2011**-Detection and molecular characterization of boscalid-resistant *Botrytis cinerea* isolates from strawberry. *Plant Disease* 95 (10):1302-1307.
- **West, J.S., Pearson, S., Hadley, P., Wheldon, A.E., Davis, F.J., Gilbert, A., and Wilcox, W.F., 1993**-Control of gray mold of strawberry through cultural manipulations of fruiting-zone microclimate. Reports pertinent to the IPM effort at Cornell University, New York State IPM Publication #208: 83-85.
- **Williamson B., Tudzynski B., Tudzynski P. et Van Kan JAL., 2007**-*Botrytis cinerea*: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*. 8: 561–580.
- **Wong, F.P. & Wilcox, W.F 2001**-Comparative physical modes of action of azoxystrobin, mancozeb, and metalaxyl against *Plasmopara viticola* (Grapevine Downy Mildew). *Plant Disease* 85:649-656
- **Yedida I, Benhamou N & Chet I, 1999**-Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology* 65 : 1061-1070.
- **Yin, Y.N., Kim, Y.K., and Xiao, C.L., 2011**-Molecular characterization of boscalid resistance in field isolates of *Botrytis cinerea* from apple. *Phytopathology* 101, 986-995.
- **Ypema, H.L. and R.E. Gold. 1999**. Kresoxim-methyl: Modification of a naturally occurring compound to produce a new fungicide. *Plant Dis.* 83:4–19.
- **ZIDANI S., 2009**- Valorisation des pelures de tomates séchées en vue de leur incorporation dans la margarine. Thèse de magister, option : Technologie Alimentaire. Laboratoire de Recherche Technologie Alimentaire L.R.T.A, université M'hamedBougaraBoumerdes, 74 p.
- **Zhang, C.Q., Zhu, J.W., Wei, F.L., Liu, S.Y., and Zhu, G.N. 2007**. Sensitivity of *Botrytis cinerea* from greenhouse vegetables to DMIs and fenhexamid. *Phytoparasitica* 35: 300 313.

Annexe 1 : Effet du Fenhexamide sur la germination des isolats de *Botrytis cinerea*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	527,6	14	37,686				
VAR.FACTEUR 1	350,27	4	87,567	4,938	0,01875		
VAR.RESIDUELLE 1	177,33	10	17,733			4,211	4,98%

Annexe 2 : Effet de l'Iprodione sur la germination des isolats de *Botrytis cinerea*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	557,73	14	39,838				
VAR.FACTEUR 1	341,73	4	85,433	3,955	0,0355		
VAR.RESIDUELLE 1	216	10	21,6			4,648	5,68%

Annexe 3 : Effet du Thiophanate-Méthyl sur la germination des isolats de *Botrytis cinerea*

	S.C.E	DDL	C.M.	TEST F	PROBA	E.T.	C.V.
VAR.TOTALE	753,73	14	53,838				
VAR.FACTEUR 1	505,73	4	126,43	5,092	0,01703		
VAR.RESIDUELLE 1	248	10	24,8			4,98	5,97%